

## 시판되는 3개의 상업용 일반배양액내에서 생쥐배아의 발달과 Pronase를 처리한 생쥐배아에 부화율의 비교 연구

전북대학교 의과대학 산부인과학교실, 서울 세영산부인과<sup>1</sup>

이기숙 · 채규정<sup>1</sup> · 류철희 · 김종덕

**목적:** 포유류배아 생리학의 지식의 증가와 인간배아배양액의 계속적인 발달로 인해 산출된 높은 생존율의 배반포를 자궁내에 이식함에도 불구하고 분만 혹은 출생율이 낮은 것은 인간배반포 (blastocyst)가 체외 (in vitro)에서 확장된 배반포 (expanded blastocyst)가 된다고 할지라도 대다수의 배반포는 부화 (hatching) 문제를 가져 배아의 투명대 (zona pellucida)로부터 완전히 부화하지 않을 수도 있는데 이는 계속적으로 제 6일 혹은, 7일까지 퇴화하기 때문인 것 같다. 투명대가 두꺼워진 것을 연구하기 위해 여러 방법이 사용되어 왔는데 이들 중 하나가 보조부화 (assisted hatching) 이라고 용어되는 것으로 투명대에 구멍 (hole)을 뚫음으로써 혹은 투명대를 얇게 하거나 투명대를 변경하여 투명대로부터 빠져 나올 수 없는 배아부화를 촉진하게 하는 방법이다. 그러므로 저자들은 인간배아의 성장에 최적인 배양액을 발견하기 위해 세계적으로 시판되고 있는 세 개의 배양액을 선택하여 조사하였으며 배아 부화의 기회를 증진하기 위해 효소의 일종인 pronase를 이용하여 배아의 투명대를 삭이므로써 (digestion) 효소처리가 배아의 부화율의 차이를 가져오는지를 조사하였다.

**재료 및 방법:** 1. 재료: 물과 먹이를 자유롭게 섭취시켜 사육한 ICR계 흰 생쥐를 사용하였다. 2. 배아배양액: 1군은 제 1, 2일은 IVF-20 (Vitro life Co. IVF science Scandinavia)에서 제 3일 상실배 이후는 같은 회사의 G2 배양액에서 배양하였다. 2군은 제 1, 2일은 P-1 Medium (Irvine Scientific Company, USA)에서 제 3일 이후에는 같은 회사의 Blastocyst Medium에서 배양하였다. 3군은 제 1, 2일은 IVF medium (Medicult Company, Penmarlc)에서 3일 이후에는 같은 회사의 M3 Medium에서 배양하였다. 3. 효소처리: 배양액에 pronase를 농도별로 (1~100 µg/ml) 섞어서 배양 제 3일에 상실배 배아만을 pronase의 각 농도에서 다시 48시간 동안 배양 (2세포기 배아 배양 후 96시간)하여 부화율을 조사하였다.

**결과:** 1. 배양 96시간 후 배반포 이상의 단계까지 난할한 배아는 (IVF-20) G2, (Medicult IVF) M3, (P-1) blastocyst 배양액에서 각기 61.5%, 45.5%, 46.1%로 (IVF-20) G2 배양액에서 배아의 발달율이 훨씬 높았다 ( $p < 0.01$ ). 2. 배양 120시간 후 확장된 배반포 이상의 단계까지 난할한 배아는 (IVF-20) G2, (Medicult IVF) M3, (P-1) blastocyst 배양액에서 각기 36.9%, 14.7%, 19.2%로 (IVF-20) G2에서 배아발달율이 훨씬 높았다 ( $p < 0.01$ ). 3. 다시 48시간 동안 배아를 배양하여 상실배를 pronase와 함께 배양하였을 때 1 µg/ml, 2.5 µg/ml, 5 µg/ml pronase군에서 각기 60.8%, 77.5%, 41.4%로 처리하지 않았을 때의 18.5% 보다 높은 부화율을 보였다 ( $p < 0.01$ ).

**결론:** 생쥐 2세포기 배아를 각 배양액에서 배양하였을 때 IVF-20 (G2) 배양액에서 가장 좋은 배아발달을 보였으며, 효소처리를 하지 않았을 때보다 pronase로 효소처리를 하였을 때 투명대의 약화가 부화율을 높일 수 있는 것으로 나타나 발달된 좋은 배양액의 사용과 투명대의 약화가 질이 높은 배아의 발달율을 높일 수 있으며 또한 부화율을 높여 인간 체외수정과 자궁내 배아이식 과정에 이용할 때 보다 높은 착상과 임신율을 보일 수 있을 것으로 사료된다.